



5×Annexin-binding Buffer

——细胞凋亡检测试剂

产品货号	包装规格	有效期
A041	50 ml	1 年

储存条件：2~6℃。

产品说明书

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编：510663
电话：4006-020-200
邮箱：sales@igenebio.com
网址：www.abpbio.com www.igenebio.com

© 2015 GeneCopoeia, Inc.

5×Annexin-binding Buffer

产品货号: A041

产品介绍

细胞凋亡 (apoptosis) 指为维持内环境稳定, 由基因控制的细胞自主的有序的死亡。它是细胞正常生理活动的一部分。在正常细胞中, 磷脂酰丝氨酸 (PS) 只分布在细胞膜脂质双层的内侧, 而在细胞凋亡早期, 细胞膜中的磷脂酰丝氨酸 (PS) 由脂膜内侧翻向外侧。Annexin V 是一种分子量为 35~36 kD 的 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白, 与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力, 故可通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此 Annexin V 被作为检测细胞早期凋亡的灵敏指标之一。将 Annexin V 进行荧光素 (eGFP, FITC, Andy Fluor) 或生物素标记, 以标记了的 Annexin V 作为荧光探针, 利用荧光显微镜或流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。

实验步骤

1. a) 悬浮细胞: 300×g, 4℃ 离心 5 min 收集细胞。
b) 贴壁细胞: 用不含 EDTA 的胰酶消化后, 300×g, 4℃ 离心 5 min 收集细胞。(注: 胰酶消化时间不易过长, 否则容易引起假阳性)
2. 准备阳性实验对照组, 使用合适的方法诱导细胞凋亡。同时准备未经凋亡诱导处理的细胞作为阴性实验对照组。
3. 用 4℃ 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次, 每次均需 300×g, 4℃ 离心 5 min。
4. 配制 1×Annexin-binding buffer: 用去离子水按 1:5 稀释 5×Annexin-binding buffer (2ml 5×Annexin-binding buffer +8ml 去离子水)。
5. 用 1×Annexin-binding buffer 重悬细胞, 调节其浓度为 $\sim 1 \times 10^6$ 细胞/ml。
6. 取 100 μl 细胞悬液于 5 ml 流式管中, 加入合适浓度的 Annexin V 偶合物和细胞膜非通透性的荧光染料如 PI, 轻轻混匀。
7. 室温、避光、反应 15 min。
8. 加入 400 μl 1×Annexin-binding buffer, 轻柔混匀, 冰上放置。
9. 请在 1 小时内, 进行荧光显微镜或流式细胞仪的观察和检测。